نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۳ شماره ۴/ سال ۱۳۹۲

تولید کنسانتره پروتئینی سبوس برنج(رقم هاشمی) و بررسی برخی از ویژگی‌های کاربردی آن

نصراله احمدی فرد [*۱]، عبدالمحمد عابدیان کناری[۲] و علی معتمد زادگان[۳]

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۰/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۲/۵/۵

[۱]استادیارگروه شیلات دانشکده منابع طبیعی دانشگاه ارومیه
[۲] دانشیار گروه شیلات دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس
[۳]استادیار گروه صنایع غذایی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری
* مسئول مکاتبات: Email:n.ahmadifard@urmia.ac.ir

چکیده

هر ساله در ایران مقادیر زیادی سبوس برنج به عنوان فرآورده فرعی در طی فرایند عمل آوری شالی‌های برنج بدست می‌آید.اگر چه پروتئین سبوس برنج از کیفیت بالایی برخوردار بوده و قابلیت استفاده در صنایع غذایی را دارد ولی در حال حاضر سبوس برنج کمتر مورد استفاده قرار می‌گیرد.برای استفاده بهتر از پروتئین سبوس برنج توسعه روش‌های موثر جداسازی و تولید کنسانتره پروتئینازآن مطلوب به نظر می‌رسد. در این تحقیق با استفاده از سود نرمال ودر شرایط قلیاییکنسانتره پروتئینی سبوس برنج ازاستخراج پروتئین‌های سبوس برنج تولید شد.ترکیب اسیدهای آمینه، آنالیز تقریبی و همچنین ویژگی‌های کاربردی پروتئین از جمله قدرت تشکیل و پایداری کف، میزان حلالیت درpHهای مختلف، قدرت تشکیل و پایداری امولسیون و توانایی جذب و نگهداری آب و روغن محصول حاصل مورد بررسی قرار گرفت. کنسانتره پروتئینی سبوس برنج حاوی ۷۵٪ پروتئین بود. نتایج آنالیز اسیدهای آمینه نشان داد که از بین اسیدهای آمینه ضروری مقدار اسید آمینه لیزین(۲/۲۵٪) ومتیونین (۲/۱۷ ٪) در کنسانتره پروتئینی سبوس برنج اساسا کمتر از میزان سایر اسیدهای آمینه بود.توانایی نگهداری آب و توانایی جذب روغن، به ترتیب ۲/۰۱ (گرم آب/گرم پروتئین) و ۲/۰۹ (گرم روغن/گرم پروتئین) بدست آمد. ظرفیت تشکیل کف در کنسانتره پروتئینی سبوس برنج میزان ۱۲۰٪ بدست آمد. میزان کف بعد از ٦٠ دقیقه به حدود ٦٠٪ کاهش یافت.ترکیبات اسیدهای آمینه و ویژگی های کاربردی کنسانتره پروتئینی سبوس برنج نشان دهنده قابلیت و پتانسیل خوب این محصول با ارزش افزوده در صنعت غذای دام و آبزیانمی‌باشد.

واژه های کلیدی: کنسانتره پروتئینی، ویژگی‌های کاربردی پروتئین، سبوس برنج، صنعت غذا

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

غلات نیمی از نیاز روزانه بشر به پروتئین را تامین می‌کند. کیفیت پروتئینی برنج پایین تر از جو دوسر ولی بالاتر از گندم و ذرت می‌باشد (چندی و سوگی ۲۰۰۷). (پروتئین برنج میزان آلرژی‌زایی کمتری داشته و حاوی مقادیر خوبی از اسید آمینه لایزین می‌باشد. بنابراین به عنوان یک افزودنی مناسب در جیره غذایی نوزادن مطرح می‌باشد(هلم و برک ۱۹۹٦). ترکیباسیدهای آمینه پروتئین برنج بهتر از کازئین و کنسانتره پروتئینی سویا بوده و نیاز های اسیدهای آمینه کودکان ۲-۵ سال را به طور کامل تامین می‌کنند(وانگ و همکاران ۱۹۹۹). برنج متعلق به خانواده غلات است که دانه آن حاوی ۰/٤ ٪ روغن، ۸/۱ ٪ پروتئین و ۸۰/۹ ٪ کربوهیدرات می‌باشد.سبوس برنج که حدوداً ٦٪ دانه برنج را تشکیل می‌دهد حاوی ۱۲/٦٪ پروتئین، ٤۰٪ کربوهیدرات، ۱۲/۸٪ روغن، ۱٤/۵٪ خاکستر و ۷/۸٪ فیبر می‌باشد(شیل و همکاران ۱۹۹۹). سبوس برنج منبع مناسبی از نظر ویتامین‌های گروه B می‌باشد. میزان پروتئین خام آن در مقایسه با دانه اصلی بیشتر است. روغن آن برای مصارف انسانی استخراج می‌شود و باقیمانده سبوس به خاطر بهبود کیفیت غذا مورد توجه کارخانجات سازنده خوراک دام و انسان قرار می‌گیرد. فیبر موجود در سبوس برنج آب جذب می‌کند و سبب ناپایداری پلت در آب می‌شود. سبوس برنج منبع خوبی از پروتئین, روغن, مواد مغذی و کالری (باربر و بندیتو ۱۹۹۱) می‌باشد. پروتئین سبوس برنج به دلیل داشتن ٤-۳ ٪ لیزین که در مقایسه با دیگر پروتئین‌های گیاهی بیشترین است از ارزش غذایی قابل توجه‌ای برخوردار می‌باشد. ترکیبات پلی پپتیدی ضد آلرژی در پروتئین سبوس برنج یافت می‌شوند(جولیانو ۱۹۸۵). سبوس برنج بازدارنده‌ای تغذیه‌ای به جز فیتوهماگلوتینین نداشته که این مورد نیز با تیمار حرارتی از بین می‌رود. میزان پروتئین محلول آن ٦ ٪وزن کل سبوس را تشکیل می‌دهد که قابل استخراج است (باربر و باربر ۱۹۸۰).

نیاز بشر به پروتئین و بویژه منابع ارزان قیمت عامل اصلی تولید محصولات با ارزش افزوده گردیده است. امروزه بیشتر تحقیقات محققین معطوف به استفاده از منابع پروتئینی گیاهی می‌باشد (چندی و سوگی ۲۰۰۷) که می‌تواند منجر به تولید محصولات غذایی با ارزش افزوده و قیمت تمام شده پایین گردد. تولید کنسانتره پروتئینی از سبوس برنج به دو روش شیمیایی و آنزیمی صورت می‌گیرد که روش شیمیایی به علت آسان بودن و ارزان قیمت بودن بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد (گناسامبادوم و هتیشراچی ۱۹۹۵). در روش شیمیایی با استفاده از شرایط قلیایی پروتئین‌ها به صورت محلول در آمده سپس با استفاده از اسید کلریدریک۱ نرمال در نقطه ایزوالکتریک رسوب داده می‌شود. اگر چه ارزش بالقوه سبوس برنج شناخته شده است ولی کنسانتره یا کنسانتره آن به طور تجاری و گسترده در دسترس نمی‌باشد. گروهی از محققین(وانگ و همکاران ۱۹۹۹؛گناسامبادوم و هتیشراچی ۱۹۹۵؛ برا و موخرجی ۱۹۸۹) توانستند کنسانتره پروتئینی از سبوس برنج تولید کرده و با بررسی ویژگی های کاربردی آن را به عنوان یک منبع غذایی پروتئینی مطرح و پیشنهاد نمایند. اگر چه در ایران سالانه مقادیر زیادی سبوس برنج در کارخانه‌ها تولید شده و لیکن هیچ گونه مطالعه جامعی در رابطه با تولید محصول با ارزش افزوده از آن صورت نگرفته است به همین منظور در تحقیق حاضر اقدام به تولید یک محصول با ارزش افزوده از سبوس برنج رقم هاشمی به نام کنسانتره پروتئینی گردید و همچنین ویژگی‌های کاربردی محصول تولید شده مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه سبوس برنج و چربی زدایی

سبوس برنج از کارخانه شالیکوبی شهرستان نور خریداری و به آزمایشگاه دانشکده منابع طبیعی و علوم

Archive of SID

www.SID.ir

دریایی دانشگاه تربیت مدرس انتقال یافت. سپس سبوس در سرد خانه با دمای°C ۱۸- نگهداری شد. چربی زدایی به روش وانگ و همکاران (۱۹۹۹) با استفاده از هگزان انجام شد. سبوس خشک شده با استفاده از الک با چشمه ۸۰ میکرون الک و در داخل کیسه‌های پلی اتیلنی بسته‌بندی و تا زمان انجام آزمایشات بعدی در دمای سرد خانه نگهداری گردید. میزان رطوبت سبوس برنج چربی زدایی شده کمتر از ۵ ٪ بود.

تهیه کنسانتره پروتئینی سبوس برنج

تهیه کنسانتره پروتئین با استفاده از روش اصلاح شده گناسامبادوم و هتیشراچی (۱۹۹۵) انجام گرفت. با تهیه مخلوط سبوس برنج چربی‌زدایی شده و آب دی‌یونیزه با نسبت ۱:۱۰ و رساندن pH مخلوط به ۱۱ (با استفاده از سود ۱ نرمال) پروتئین سبوس برنج در قسمت رویی جمع آوری شد. با رساندن pH قسمت رویی به ٤/٥ (با استفاده از اسید کلریدریک ۱ نرمال) و سانتریفوژ کردن پروتئین رسوب داده شد. در این حالت قسمت رسوب کرده را با آب مقطر دی یونیزه شسته و pH آن با استفاده سود ۱ نرمال به ۷ رسانده و سپس فریز درایر شد. محصول نهایی که کنسانتره پروتئینی سبوس برنج نام دارد در فریزر نگهداری شد.

آنالیز اسیدهای آمینه کنسانتره پروتئینی سبوس برنج

مقدار اسیدهای آمینه کنسانتره پروتئینی سبوس برنج طبق روش گاوالاریان وهمکاران (۱۹۹۵) تعیین گردید. به طور خلاصه برای هر ۱۰۰ میلی گرم ،۷/٥ میلیتر اسید کلریدریک ٦ نرمال داخل لوله های شیشه ایی با درب‌های محکم ریخته شد. بعد از تخلیه هوای موجود در لوله‌ها با کمک گاز نیتروژن در دمای°C ۱۱۰ نمونه‌ها به مدت ٢٤ ساعت هضم گردیدند. بعد از عمل هضم نمونه‌هافیلتر شده و ۱۰ میکرو لیتر از آن به لوله‌های هضم ۳۰ میلیتری منتقل و در شرایط خلا خشگ گردید. نمونه‌ها با استفاده از مخلوطی از بافر استات سدیم و متانول به نسبت ٥ به ۱ و بافر بورات آماده و سپس با کمک OPA (*o*-phthaldialdehyde) مشتق سازی شدند. ۲۰ میکرو لیتر از نمونه آماده شده به دستگاه HPLC (Knauer, Germany) با ستون C18 و آشکارساز فلورسانس (RF-530, Knauer, Germany)تزریق شد. میزان جذب اسید های آمینه با استفادهاز آشکار ساز UV-Visible و با طول موج ۵۷۰ سنجش و با استاندارد مورد مقایسه قرار گرفت.

بررسی ترکیب شیمیایی

ترکیبات شیمیایی سبوس و کنسانتره پروتئینی تولید شده به روش AOAC (۱۹۹٥) تعیین گردید. نیتروژن کل بر اساس روش کجلدال (230-Hjeltec Analyzer; Foss Tecator, Hoganas, Sweden) اندازه گیری و سپس پروتئین خام بااستفاده از فاکتور ٥,۹٥ محاسبه شد(باربر و همکاران ۱۹۹۱). میزان رطوبت در دمای°C ۱۰٥ به مدت ٢٤ ساعت تعیین گردید. مقدار خاکستر نمونه‌ها با استفاده از کوره در دمای°C ٦۰۰ به مدت ٤ ساعت سنجیده شد. میزان چربی کل نمونه ها با قرار دادن و هموژن کردن در حلال متانول:کلرفرم (۲:۱) تعیین گردید(فولچ و سولان استنلی ۱۹٥۷).

تعیین قابلیت حلالیت پروتئین

حلالیت پروتئین کنسانتره پروتئینی سبوس برنج در pH های مختلف با استفاده از روش برا و موخرس (۱۹۸۹) تعیین گردید. در یک سری بشر ٥۰ میلی لیتری pH محلول پروتئینی (2% w/v) را با استفاده از اسید کلریدریک و یا سود ۱ نرمال از ۳ تا ۱۲، بر روی همزن، تنظیم شدند. سپس با دور ٥۰۰۰ g به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. میزان پروتئین در قسمت رویی با استفاده روش برادفورد (۱۹۷٦) سنجیده شد. از آلبومین سرم گاوی به عنوان استاندارد استفاده شد. میزان جذب با استفاده از اسپکتروفتومتر (Jenway, 6305, UK) با طول موج ٥۹٥ قرائت گردید. میزان حلالیت پروتئین با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

Archive of SID

www.SID.ir

درصد حلالیت پروتئین = (میزان پروتئین در قسمت رویی/ میزان پروتئین در نمونه) × ۱۰۰

الکتروفورز پروتئین سبوس برنج در pH ۳-۱۲

الکتروفورز کنسانتره پروتئینی سبوس برنج (پروتئین محلول حاصل از سوپر ناتانت) در pH های مختلف با استفاده از ژل عمودی پلی اکلریل آمید با غلظت ۱۲ ٪ طبق روش لاملی و همکاران (۱۹۷۰) انجام گرفت. نمونه ها (٤٠ میکروگرم پروتئین) با بافر (تریس اسیدی ۰/۱۲۵ مولاری، SDS ٤٪، گلیسرول ۲۰٪ ، ۰/۲DTT مولار و برموفنل آبی ۰/۰۲ ٪ در pH 6.8) به نسبت ۱:۱ مخلوط شده و به مدت ۵ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شدند. برای جدا کردن باندهای پروتئین از ژل آکریل آمید ۱/۵ میلی متر و شدت جریان ۳۰ میلی آمپر برای هر ژل استفاده شد. رنگ آمیزی باندهای پروتئین جدا شده با استفاده از کوماسی بلو R-250و سپس رنگ زدایی در محلول ٤٠٪ متانول و ۷٪ اسید استیک انجام شد. ژل های تهیه شده با استفاده از اسکنر الکتریکی (Umax Power Look 2100, UMAX Technologies, Fremont, CA) عکس برداری شدند.

تعیین ویژگی‌های امولسیفایری

خصوصیت امولسیفایری با استفاده از روش چندی و سوگی (۲۰۰۷) تعیین شد. روغن ذرت خالص(۲ میلی لیتر) و ٦ میلی لیتر محلول پروتئین ۰/۱ ٪ (pH مساوی با ۸) با هموژنایزر هموژن گردید. ۵۰ میکرو لیتر از امولسیون از قسمت ته ظرف با پیپت در زمان های صفر و ۱۰ دقیقه بعد از هموژن کردن برداشته شد. هر قسمت با ۵ میلیتر SDS (سدیم دو دسیل سولفات) ۰/۱ ٪ رقیق و میزان جذب محلول های رقیق شده در طول موج ۵۰۰ نانومتر با استفاده از اسپکتوفتومتر در مقابل با شاهد قرائت شد. میزان جذبی که فوراً و بعد از ۱۰ دقیقه بعد از تشکیل امولسیون اندازه گیری شده برای محاسبه شاخص فعالیت امولسی فایری(EAI) و شاخص پایداری امولسیون (ESI) استفاده شد.

$$EAI\left(\frac{m^2}{g}\right) = 2 \times \frac{T(A0 \times DF)}{C} \times \emptyset \times 10000$$

T= ۲/۳۰۳

DF (فاکتور رقت) = ۱۰۰

Ø= حجم بخش روغن امولسیون(۱/٤)

c = وزن پروتئین در حجم واحدی از مرحله آبی قبل از تشکیل امولسیون

$$ESI(Min) = A0 \times \frac{\Delta t}{\Delta A}$$

Δt= 10 دقیقه

ΔA = A0-A10

تعیین ویژگی‌های تشکیل کف

ویژگی‌های تشکیل کف با عناوین ظرفیت تشکیل کف(FC) و پایداری کف(FS) با روش چندی و سوگی (۲۰۰۷) تعیین شد. ویژگی های تشکیل کف که به صورت افزایش حجم درصدی محاسبه شده به قرار زیر است:

$$FC = \frac{\text{حجم قبل از همزدن} - \text{حجم بعد از همزدن}}{\text{حجم قبل از همزدن}} \times 100$$

FS با اندازه گیری ارتفاع کف در ۱۰، ۳۰، ٤٥ و ٦٠ دقیقه تعیین شد. ظرفیت تشکیل کف(FC) و پایداری کف(FS) در pH ۸ و دمای اتاق تعیین گردید.

توانایی جذب و نگهداری آب و روغن

ظرفیت نگهداری آب و جذب روغن بر اساس روش چندی و اسریواستاوا (۲۰۰۷) انجام گرفت. یک گرم نمونه با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر یا روغن ماهی درون یک لوله سانتریفوژ مخلوط شدند. بعد از نگهداری به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق لوله ها با دور g۳۰۰۰ به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. قسمت فوقانی (سوپرناتانت) دور ریخته شد و لوله ها وزن شدند. میزان جذب آب و روغن طبق فرمول های زیر محاسبه شدند:

Archive of SID

www.SID.ir

$$WHC = \frac{W2 - W1}{W0}$$

WHC = ظرفیت نگهداری آب

W0 = وزن نمونه خشک (گرم)

W1 = وزن لوله به همراه وزن خشک نمونه (گرم)

W2 = وزن لوله به همراه وزن رسوبات (گرم)

$$FAC = \frac{F2 - F1}{F0}$$

FAC = ظرفیت جذب روغن

F0 = وزن نمونه خشک (گرم)

F1 = وزن لوله به همراه وزن خشک نمونه (گرم)

F2 = وزن لوله به همراه وزن رسوبات (گرم)

روش‌های تجزیه و تحلیل آماری

پس از انجام آزمایش ها نرمال بودن داده های خام با استفاده از آزمون کولموگراف اسمیرنوف و میزان همگنی واریانس داده ها با استفاده از آزمون Leven مورد بررسی قرار گرفت. از روش آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون دانکن در سطح ۹۵٪ برای داده های ترکیبات شیمیایی و آزمون t-student برای بررسی داده های ویژگی های کاربردی استفاده شد.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی کنسانتره پروتئینی سبوس برنج

نتایج مربوط به آنالیز تقریبی سبوس برنج حاوی چربی، سبوس برنج چربی زدایی شده و کنسانتره پروتئینی سبوس برنج در جدول ۱ آورده شده است. کنسانتره تولید شده حاوی ۷۵ درصد پروتئین، ۷/۱۱٪ چربی و ٦٪ خاکستر می باشد.چندی و سوگی (۲۰۰۷)میزان پروتئین کنسانتره تولید شده را بسته به واریته های مختلف بین ۵۲-۵۸ ٪ گزارش کردند. آلتور و همکاران (۲۰۰۲) مقدار پروتئین خام درکنسانتره پروتئینی leaf را بین ۳۵/۱ تا ٥٤/۹ ٪ گزارش ولیسوگی و همکاران (۲۰۰۲) میزان پروتئین در کنسانتره پروتئینی دانه گوجه فرنگی را ۷۱/۳۲ ٪ گزارش کردند. میزان پروتئین کنسانتره پروتئینی تولید شده در این مطالعه از میزان گزارش شده توسط چندی و سوگی (۲۰۰۷) بیشتر می باشد که می تواند به علت تفاوت واریته و یا شرایط استخراج پروتئین در دو مطالعه باشد. در این مطالعه از روش قلیایی برای تولید کنسانتره پروتئینی سبوس برنج استفاده گردید که نتیجه آن تولید محصولی با ۷۵ ٪ پروتئین می باشد. تانگ و همکاران(۲۰۰۳) با استفاده از فرایندهای فیزیکی به همراه تیمار آنزیمیتوانستند از سبوس برنج پروتئین استخراج کنند. آنها گزارش کردند که فرایندهای فیزیکی(فشار بالا، صوت دهی و مخلوط کردن[1]) در ترکیب با تیمار آنزیمی آمیلاز قادر به تولید کنسانتره ایی در حدود ٦٦٪ پروتئین را از سبوس برنج دارا می باشد. شیح و دایگله (۲۰۰۰)با استفاده از آنزیم‌های آلفاآمیلاز، گلوکوآمیلاز، مخلوطی از سلولاز و زیلاناز به این نتیجه رسیدند که آلفا آمیلاز به همراه گلوکوآمیلاز موثرتر واقع شدند و محصولی با ۸۵٪ پروتئین تولید کردند.

[1]- Blending

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۱- نتایج آنالیز تقریبی سبوس حاوی چربی، سبوس فاقد چربی و کنسانتره پروتئینی سبوس برنج

ترکیبات کنسانتره	کنسانتره پروتئینی	سبوس برنج چربی زدایی شده	سبوس برنج حاوی چربی
پروتئین	۷۵±۲	۱۵/۷۲± ۱/۵	۱۳/٦ ± ۱/۱
چربی	۷/۱۱±۰/۲	۱/۹۲± ۰/۱	۱۳/۳± ۰/٤
خاکستر	٦ ± ۰/۳	۱۳/۱۱ ±۰/۲	۸/۹۷±۰/٦
کربوهیدرات+فیبر	۱۱/۹ ± ۰/٤	۷۱/۲± ۱/۲	٦٤/۲± ۱/۹

ترکیب اسیدهای آمینه

ترکیباسیدهای آمینه کنسانتره پروتئینی سبوس برنج در جدول ۲ آورده شده است. مقادیر نسبی اسیدآمینه متیونین از اسیدهای‌آمینه ضروری سولفوردار پایین می‌باشد. مطالعه کوماگای و همکاران (۲۰۰٦) بر روی تولید کنسانتره پروتئینی از برنج نیز نشان داد که هر دو اسید امینه سولفوردار متیونین و سیستئین نسبت به پودر برنج به طور معنی داری کاهش یافته بود. در زمان تهیه پروتئین سبوس برنج بوی گوگرد درمرحله رسوب دهی پروتئین با اسید مشخص شد. گزارش شده که تیمار ملایم قلیایی محلول پروتئینی غنی از گوگرد منجر به تخریب سیستئین شده و گاز H2S در زمان اسیدی شدن تولید می گردد (ناشف و همکاران ۱۹۷۷؛ فلورنس ۱۹۸۰). از بین اسیدهای آمینه ضروری مقدار اسید آمینه لیزین در کنسانتره پروتئینی سبوس برنج ۲,۲۵٪ اساساً کمتر از میزان گزارش شده برای کنسانتره پروتئینی سویا بود، اما میزان متیونین (۲,۱۷) در کنسانتره پروتئینی سبوس برنج بیشتر از مقدار گزارش شده در کنسانتره سویا و کازئین بود. اگر چه گزارش شده میزان لیزین درسبوس برنج بیشتر از خود برنج می باشد ولیکن همچنان دراین تحقیق مشخص شد که اسیدآمینه لیزین در کنسانتره سبوس برنج نیز جزء اسیدآمینه های محدود کننده می باشد. عموماً اسیدآمینه لیزین در پروتئین برنج و اسیدآمینه متیونین در پروتئین لگوم ها به عنوان اسید آمینه‌های محدود کننده مطرح می‌باشند. بنابراین ترکیب این دو کنسانتره پروتئینی سویا و سبوس برنج جهت فرموله کردن یک ترکیب با پروتئین بالا و ارزش غذایی بالا مطلوب به نظر می‌رسد.

حلالیت پروتئین در pH های مختلف

حلالیت پروتئین یک از مهمترین ویژگی های کاربردی پروتئین ها می‌باشد به خاطر اینکه ویژگی های دیگر پروتئین از جمه قدرت کف زایی و میزان پایداری آن، توانایی جذب و نگهداری آب و روغن و ظرفیت امولسی فایری به میزان حلالیت پروتئین وابسته می‌باشد (زایاس ۱۹۷۷). کنسانتره پروتئینی سبوس برنج حلالیت بالاتری در pH های قلیایی و اسیدی نشان داد(شکل ۱و شکل ۲). پروتئین سبوس برنج کمترین حلالیت خود را در pH ۵ (نقطه ایزوالکتریک) نشان داد. حلالیت پروتئین در محیط آبی وابسته به pH می‌باشد. گلوتلین[2](۸۰٪)از مهمترین ترکیب پروتئین در برنج می‌باشد که وزن مولکولی بالایی داشته و متشکل از پیوندهای دی سولفید بوده که فقط در pHهای خیلی اسیدی و قلیایی حل می‌شود(ساوای و همکاران ۱۹٦۸). در تحقیق حاضرنیز کنسانتره پروتئین سبوس برنج در pHهای اسیدی (pH< 4) و قلیایی(pH> 7) حلالیت بالاتر و رو به افزایشی را نشان دادند. محلول‌های اسید و باز تخریب و هیدرولیز پروتئین‌های برنج را تسریع کرده و باعث افزایش حلالیت می شوند(وانگ و همکاران ۱۹۹۹). شیح و دایگل (۲۰۰۰) گزارش داده که کنسانتره پروتئینی برنج در بین pH های ۳تا ۹ حلالیت کمتری داشته و فقط در H های خیلی اسیدی و خیلی قلیایی

[2]-glutelin

Archive of SID

www.SID.ir

حلالیت بالایی نشان دادند. در بسیاری از غذاها از جمله نوشیدنی‌ها و شربت‌ها، چاشنی‌ها، مواد آرایشی، و شیرینی‌ها حلالیت بالا نیتروژن برای کنسانتره پروتئینی بسیار حائز اهمیت می‌باشد. پروتئین‌ها باید حلالیت خوبی جهت بهبود ویژگی های های کاربردی پروتئین از جمله ژلاتینه شدن، تشکیل و پایداری کف و ویژگی های امولاسیون داشته باشند.به هر حال حلالیت پروتئین تحت تاثیر غلظت نمک، pH و درجه حرارت می‌باشد. آدبیعی و همکاران (۲۰۰۷) بیان کردند که در کنسانتره پروتئینی سبوس برنج به دلیل حذف کربوهیدرات و ایجاد اثرات متقابل آبگریزی پروتئین – پروتئین میزان حلالیت پروتئین کمتر شده است. افزایش اثرات متقابل آبگریزی به علت تمایل زیاد پروتئین به تشکیل تجمعات غیر محلول بوده که سبب کاهش حلالیت می‌شود. در مطالعه حاضر نیز نشان داده شد که کنسانتره پروتئینی تولید شده در pH ۱۲ حلالیت ۸۰ درصدی را دارا می باشد که علت آن می‌تواند همان اثرات متقابل آبگریزی پروتئین – پروتئین باشد. هامادا (۲۰۰۰) میزان حلالیت نیتروژن در هیدرولیزات پروتئین سبوس برنج را بین ٦١ تا ٧٣ درصد گزارش کرد که قابل مقایسه با داده های حاصل از مطالعه حاضر می‌باشد.

جدول ۲- نتایج ترکیب اسید های آمینه کنسانتره پروتئینی سبوس برنج (گرم/ ۱۰۰ گرم پروتئین)

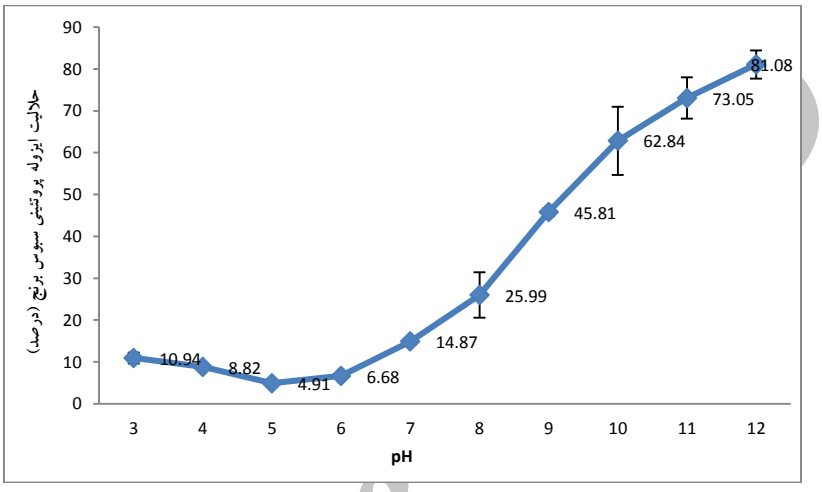
اسید آمینه	**کنسانتره پروتئینی سبوس برنج**	کازئین	کنسانتره پروتئینی سویا
آسپارتیک اسید	٦/٧١	۹/۱۷	۱۴/۲۱
گلوتامیک اسید	۱۳/٦۱	۱۸/۸	۱۸/۵۱
سرین	**۷/۶۸**	۷/۹۹	۸/۷۳
هیستیدین	۱/۳۰	۲/۲۵	۱/۹۳
گلایسین	٦/٩٥	٤/٩٩	۸/۸
ترئونین	٦/٨٠	٤/٥٩	٤/٢٤
آرژنین	۸/۷۹	۳/۲۳	٦/٥٩
آلانین	۸/۷٦	٤/٩٩	٦/٠٣
متیونین	۲/۱۷	۲/۱	۰/۹۲
والین	۷/٦۹	٥/٧٧	۲/۸۹
فنیل الانین–تیروزین	٦/٩٦	٦/٩٧	٦/٧٢
ایزولوسین	٤/٩٣	٣/٥٤	۲/۳۷
لوسین	۹/۰۳	٦/٤١	٤/٨٨
لیزین	۲/۲۵	۸/٤٨	٥/٥٨

الگوی الکتروفورزکنسانتره پروتئینی سبوس برنج

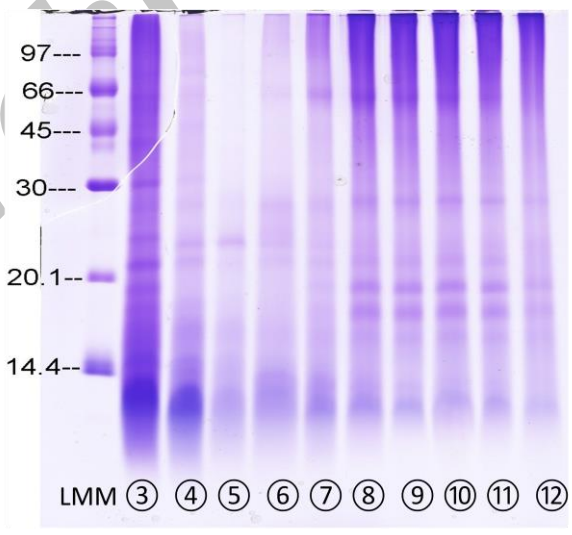
الکتروفورز کنسانتره پروتئینی سبوس برنج (پروتئین محلول حاصل از سوپر ناتانت) در pHهای ۳ تا ۱۲ در شکل ۲ آورده شده است. همانطور که در شکل ۲ نشان داده شده پروتئین های کنسانتره سبوس برنج در pHهای اسیدی (pH ٤ و ٣) حاوی پروتئین با وزن مولکولی پایین‌تری می‌باشند به طوری که بخش قابل توجهی از پروتئین‌های تجمع یافته در روی ژل وزنی کمتر از ١٤,٤ کیلو دالتون داشتند برعکس در pH های قلیایی بالاتر از ۸، وزن مولکولی باندهای پروتئینی تجمع یافته بر روی ژل بالاتر از ٦٦ کیلودالتون بود. کنسانتره پروتئینی تولید شده از این سویه برنج کمترین

Archive of SID
www.SID.ir

حلالیت را در pH ۵ نشان داد که نقطه ایزوالکتریک پروتئین این سویه از برنج می باشد. این مسئله را می-توان بر روی ژل نیز به وضوح دید. بورگت و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که آلبومین برنج پلی پپتیدهای با وزن مولکولی ۱۸ – ۲۰ کیلودالتون بوده و همچنین وزن مولکولی پلی‌پپتیدهای گلوبولین در ۱۵، ۲۵،۵ و ۲۰۰ کیلو دالتون نمایان می‌شود. پرولامین شامل ۳ زیر واحد پلی پپتیدی با وزن مولکولی ۱۰، ۱۳ و ۱۶ کیلودالتون می‌باشد. کاو و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که پروتئین سبوس برنج نسبت به پروتئین برنج مقادیر بیشتری از پروتئین‌های با وزن مولکولی کمتر از ۱۴ کیلو دالتون دارند.



شکل ۱ – حلالیت پروتئین کنسانتره سبوس برنج در pH های مختلف



شکل ۲– الکتروفورز کنسانتره پروتئینی سبوس برنج با SDS-PAGE در pH ۳ تا ۱۲ LMM

مارکر با وزن مولکولی پایین (۹۷–۱۴/۴ کیلو دالتون) ، عددها نمایشگر pH های محلول های پروتئینی می‌باشند (از pH ۳ تا pH ۱۲)

Archive
www.SID.ir

قابلیت جذب آب و روغن

ویژگی‌های کاربردی پروتئین وابسته به اثرات متقابل آب- پروتئین و روغن- پروتئین می باشد. ظرفیت جذب آب و نگهداری روغن در کنسانتره پروتئین سبوس برنج در مقایسه با کنسانتره پروتئینی سویا (با۵۵درصد پروتئین)مورد مطالعه قرار گرفت. ظرفیت جذب آب در کنسانتره پروتئینی سبوس برنج رقم هاشمی(g/g ۲,۰۱) به طور معنی داری($P<0.05$) کمتر از کنسانتره پروتئینی سویا (۵,۱۶)بود. میزان جذب آب ممکن است مرتبط با شاخص حلالیت پروتئین باشد به طوری که در تحقیق حاضر pH مورد استفاده برابر ۸ بود که در این pH حلالیت پایین تر می‌باشد و در نتیجه میزان جذب آب نیز کمتر بدست آمد. کاو و همکاران (۲۰۰۹) میزان ظرفیت جذب آب را در پروتئین سبوس برنج ۳,۵٤ میلی لیتر بر گرم گزارش کردند. در مواد غذایی مختلف ظرفیت جذب آب بین ۱,٤۹ تا ٤,۷۲ متغیر می‌باشد(چندی و سوگی ۲۰۰۷). میزان ظرفیت جذب آب در مطالعه حاضر مشابه با ظرفیت جذب آب کنسانتره پروتئینی لوبیا(ال-آداوی و همکاران ۲۰۰۱)، کنسانتره پروتئینی cashew nut (اگونولو و همکارن ۲۰۰۹)، فندق (مورع و همکاران ۲۰۰۱) و پودر بادام زمینی (مونتیرو و پراکش ۱۹۹٤) بود که به ترتیب ۲,۱۲، ۱,۷٤، ۱,۳٤ و ۱,٤۵ گرم/ گرم گزارش شده است. در مطالعه حاضر میزان جذب روغن در کنسانتره پروتئینی سبوس برنج رقم هاشمی ۲/۰۹ بدست آمد که با کنسانتره پروتئینی سویا تفاوت معنی‌داری نداشت. این در حالی است که چندی و همکاران (۲۰۰۰) برای کنسانتره پروتئین سویا میزان ٤/۳ گرم/گرم گزارش کرده اند. برای درست کردن بعضی مواد از قبیل چاشنی های سالاد ، سس ها و کیک و به مقادیر بالای جذب روغن نیازمند است. قدرت بالای جذب آب پروتئین ها منجر به کاهش اتلاف و از دست رفتن آب در محصولات بسته بندی شده خواهد شد. همچنین این خاصیت برای حفظ تازگی محصولات بسته بندی شده نیاز است. در مطالعه حاضر میزان جذب آب کنسانتره پروتئینی سبوس برنج در حد متوسط بدست آمد. میزان جذب روغن کنسانتره پروتئینی سبوس برنج بالاتر از کازئین (۰/۹ گرم روغن/گرم پروتئین) و شبیه به پروتئین گندم (۲/۹ گرم روغن/گرم پروتئین) می‌باشد(توموتاکو و همکاران ۲۰۰۲).

ویژگی های امولسیفایری

شاخص فعالیت امولسیفایری و شاخص پایداری امولسیونکنسانتره پروتئینی سبوس برنج در مقایسه با کنسانتره پروتئینی سویا در جدول ۳ آورده شده است. کنسانتره پروتئینی سبوس برنج به طور معنی داری میزان شاخصفعالیت امولسی‌فایری و شاخص پایداری امولسیون بالاتری نسبت به کنسانتره پروتئینی سویا نشان داد($P<0.05$). کنسانتره پروتئینی سویا اگر چه میزان شاخص فعالیت امولسی‌فایری کمتری داشته ولیکن پایداری امولسیون خوبی را نشان داد. آدبیعی و همکاران (۲۰۰۷) میزان فعالیت امولسیفایری ۲۳-۲۵ (مترمکعب بر گرم) و میزان شاخص پایداری امولسیون ۱۸۱-۳۰۲ دقیقه را در پروتئین‌های مختف کنسانتره پروتئینی سبوس برنج گزارش کرده است. میزان حلالیت پروتئین برای تشکیل فیلم (لایه قوی امولسیون) بسیار مهم می باشد چرا که جابجایی سریع و جذب در حد واسط آب و روغن بسیار مهم و حیاتی می‌باشد. یک رابطه مثبتی بین حلالیت و توانایی تشکیل امولسیون پروتئین گزارش شده است (فلیکس و همکاران ۱۹۹۰). فاکتورهای مختلفی از جمله pH ، اندازه قطرات ایجاد شده، کشش سطحی، ویسکوزیتی ، و ترکیب پروتئین می‌تواند بر توانایی تشکیل امولسیون پروتئین تاثیر گذار باشد.

Archive of SID

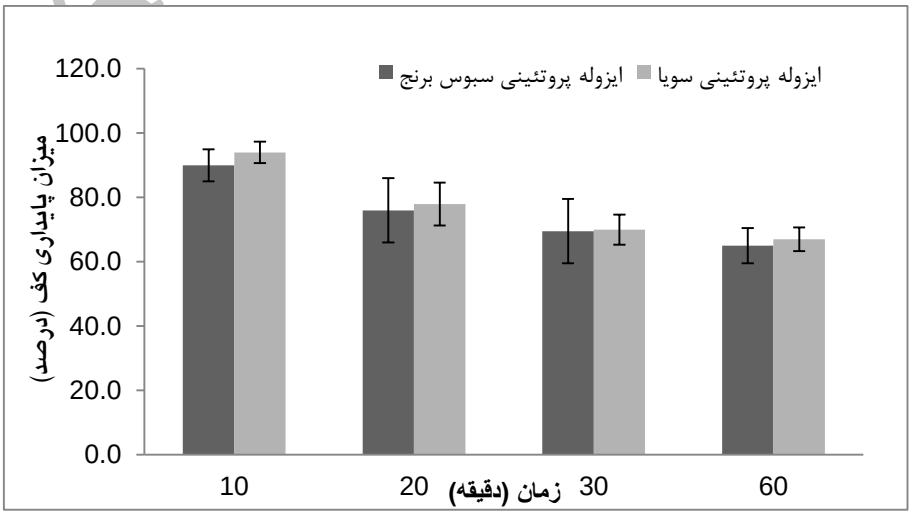
www.SID.ir

جدول ۳-ویژگی‌های کاربردی کنسانتره پروتئینی سبوس برنج و کنسانتره پروتئینی سویا

ویژگی‌های کاربردی	کنسانتره پروتئینی سبوس برنج	کنسانتره پروتئینی سویا
توانایی نگهداری آب (گرم آب/گرم پروتئین)	۲/۰۱ ± ۰/۲۳^{b}	۵/۱۶ ±۰/۰۵^{a}
توانایی جذب روغن (گرم روغن/گرم پروتئین)	۲/۰۹ ± ۰/۰۵^{a}	۲/۳٤ ±۰/۰۵^{a}
شاخص فعالیت امولسی فایری(EAI)(m^2/g)	۱۱/۲± ۰/۱۱^{a}	۵/۲۵ ±۰/٤۳^{b}
شاخص پایداری امولسیون (ESI) (دقیقه)	۱۲۰/۲۸ ± ٤۲/۲۱^{a}	٦۱/۲۳±۱/۳۱^{b}
ظرفیت تشکیل کف(FC) (درصد)	۱۲۰± ۵/۰^{a}	۹٦/۳٤ ±۲/۲۵^{b}

ویژگی‌های تشکیل کف

پروتئین‌ها مهمترین عامل تشکیل کف می‌باشند و برای تشکیل کف باید در آب حل شده و به سرعت یک لایه‌ای پیوسته‌ای اطراف حباب‌های هوا یا گاز ایجاد کنند (تانگ و همکاران ۲۰۰۳). ویژگی های تشکیل کف با مقدار اسیدهای آمینه آب گریز که در سطح مولکول پروتئینی قرار دارد ارتباط مستقیم دارد (وانگ و همکاران ۱۹۹۹). پروتئین‌های حل شده کشش سطحی را در حد واسط آب- هوا کاهش داده و ظرفیت تشکیل کف را بوجود می آورند(تورجون و همکاران ۱۹۹۲). برای داشتن پایداری کف مولکولهای پروتئینی باید به طور پیوسته پلی‌مرهای بین‌مولکولی تشکیل داده که اطراف حباب‌های هوا را احاطه کند(تانگ و همکاران ۲۰۰۳). ظرفیت تشکیل کف در کنسانتره پروتئینی سبوس برنج ۱۲۰ درصد بود(جدول ۳). در مقایسه با کنسانتره پروتئینی سویا ظرفیت تشکیل کف در کنسانتره پروتئینی سبوس برنج بیشتر از کنسانتره پروتئینی سویا بود. دنچ و همکاران (۱۹۸۱) با مطالعه بر روی کنسانتره پروتئینی کنجد به این نتیجه رسید که قابلیت تشکیل کف و پایداری کف در پروتئین کنجد به مراتب پایین‌تر از کنسانتره پروتئینی سویا می‌باشد. میزان پایداری کف در کنسانترهپروتئینی سبوس برنج در مقایسه با کنسانتره پروتئینی سویا در شکل ۳ آورده شده است. هیچ تفاوت معنی‌داری در پایداری کف کنسانتره پروتئینی سبوس برنج در مقایسه با کنسانتره پروتئینی سویا مشاهده نشد ($P>0.05$). ویژگی های تشکیل کف پروتئین ها تحت تاثیر منبع پروتئین، روش عمل آوری پروتئین، درجه حرارت، pH، غلظت پروتئین، مدت زمان هم زدن و روشهای مختلف بررسی کف‌زاییدارد(ساتع و همکاران ۱۹۸۲).



شکل ۳- میزان پایداری کف در کنسانتره پروتئینی سبوس برنج در مدت زمان ۶۰ دقیقه در مقایسه با کنسانتره پروتئینی سویا

Archive of SID

www.SID.ir

نتیجه گیری

در مطالعه حاضر کنسانتره پروتئینی سبوس برنج تولید شده از سبوس برنج رقم هاشمی دارای منبع خوبی از پروتئین می‌باشد (۷۵٪ پروتئین). مطالعه بر روی کنسانتره پروتئینی نشان داد که ترکیب اسید های آمینه آن قابل مقایسه با کنسانتره پروئینی سویا می‌باشد و بجز در مورد اسید آمینه لیزین در مورد سایر اسیدهای آمینه از کنسانتره پروتئینی سویا نیز بهتر بود. کنسانتره پروتئینی سبوس برنج میزان حلالیت بالایی را در pH های بالا نشان دادند. از بین ویژگی هایکاربردی شاخص فعالیت و پایداری امولسیون در این محصول بهتر از کنسانتره سویا بود. در حالی که توانایی نگهداری آب در این محصول کمتر از کنسانتره پروتئینی سویا بدست آمد.

قدردانی و تشکر

نویسندگان مقاله بر خود لازم می دارند از دانشگاه تربیت مدرس به دلیل حمایت های مالی جهت انجام این پروژه کمال تشکر به عمل آورند.

منابع مورد استفاده

Adebiyi AP, Adebiyi AO, Ogawa T and Muramoto K, 2007. Preparation and charactrerization of high quality rice bran proteins, Journal of the Science of Food and Agriculture 87:1219-1227

Aletor O, Oshodi AA and Ipinmoroti K, 2002. Chemical composition of common leafy vegetables and functional properties of their leaf protein concentrates. Food Chemistry 78:63–68.

AOAC 1995: Association of Official Analytical Chemists, 16th (end), Procedure 984. 25.

Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding. Analytical Biochemistry 72:248–254.

Barber S, Benedito de Barber, C, 1991. Rice bran: chemistry and technology. In: Luh, B.S. (Ed.), Rice: Production and Utilization. AVI Publishing, Connecticut. pp 732-781

Barber S and Barber CB De, 1980. Rice bran:chemistry and technology. In: Rice: Production and Utilization. (ed B.S. Luh) AviPublishing, Westport pp. 790-862.

Bera MB, Mukherjee RK, 1989. Solubility, emulsifying, and foaming properties of rice bran protein concentrates. Journal of Food Science54(1):142-145.

Borght AVD, Vandeputte GE, Derycke V, Brijis K, Daenen G, Delcour JA, 2006. Extractability and chromatograghic separation of rice endosperm proteins. Journal of Cereal Science 44: 68-74

Cao X, Wen H, Li C, GuZ, 2009. Difference in functional properties and biochemical charactrestics of congenetic rice proteins, Journal of Cereal Science 50:184-189

Cavallarin L, Antoniazzi A, Borreani G, Tabacco E, 2005. Effects of wilting and mechanical conditioning on proteolysis in sainfoin (*Onobrychis viciifolia Scop*) wilted herbage and silage. Journal of the Science of Food and Agriculture 85:831–838.

Chandi G K, and Sogi D S, 2007. Functional properties of rice bran protein concentrates. Journal ofFood Engineering79: 592-597.

Dench, JE, Rivas, R, Caygill, JC, 1981. Selected functional properties of sesame (*Sesamum indicum* L.) flour and two protein isolates. Journal of the Science of Food and Agriculture 32:557-564.

El-AdawyT A, Rahma E H, El-Bedawey A A, and Gafar A F, 2001. Nutritional potential and functional properties of sweet and bitter lupin seed protein concentrates. Food Chemistry 74:455–462.

Felix A, Hill RA, and Diarra B, 1990. In vitro and invivo digestibility of soybean straw treated with various alkaline, Animal Production 51:47-60

Florence TM, 1980. Degradation of protein disulphide bonds in dilute alkali.Biochemical Journal 189:507-520.

Archive of SID

www.SID.ir

Gandhi APand Srivastava J,2007. Studies on the production of protein concentrates from defatted sesame seed (*Sesamum indicum*) flour and their nutritional profile. ASEAN Food Journal 14 (3): 175-180.

Gandhi, AP, Khare, S K, and Jha, K, 2000. Preparation and characterization of protein concentrates from soymeal. Journal of Food Science and Technology 37:624–626.

GnanasambandamR, HettiarachchyNS,1995. Protein concentrates from nonheat-stabilized rice bran: Preparation and properties. Journal of Food Science60:1066–1069.

Hamada JS, 2000. Characterization and functional properties of rice bran protein modified by commercial exoproteases and endoproteases. Journal of Food Science 65:305 – 310.

Helm RMand AWBurks, 1996. Hypoallergenicity of rice protein, Cereal Food World 41:839–843

Juliano BO, 1985. Rice bran. In *Rice:* Chemistry and Technology; American Association of Cereal Chemists: St. Paul, MN, pp 654

Kumagai T, Kawamura H, Fuse T, Watanabe T, Saito Y, Masumura T, Watanbe R, and Kadowaki M, 2006. Production of rice protein byalkaline extraction improve its digestibility. Journal of Nutritional Science and Vitaminology 52:467-472

Laemmli U K, 1970. Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. Nature 227, 680 – 685.

Moure A, Sineiro J, and DomínguezH, 2001. Extraction and functionality of membrane-concentrated protein from defatted Rosa rubiginosa seeds. Food Chemistry 74:327–339.

Monteiro P V, and Prakash V, 1994. Functional properties of homogeneous protein fractions from peanut (*Arachi hypogaea* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry 42:274–278.

Nashef A S, Osuga DT, Lee HS, Ahmed AL, Whitaker JR, Feeney RE, 1977. Effect of alkali on protein. Disulfides and their products. Journal of Agricultural and Food Chemistry25:245-251

Ogunwolu SO, HenshawbFO, Mock H, Santros A, and Awonorin SO, 2009. Functional properties of protein concentrates and concentrates produced from cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut. Food Chemistry 115:852–858.

Sawai N, and Morita Y, 1968. Studies on rice glutelin. Crossstructure of glutlin from rice endosperm, Agricultural and Biological Chemistry 32:496-500.

Shih FF and Daigle KW,2000. Preparation and characterization of rice protein concentrates Journal of the American Oil Chemists' Society77: 885-890.

Shih FF,Champagne K D and Zarins Z, 1999. Use of enzymes in the processing of protein products from rice bran and rice flour. Nahrung 43:14-18

Sogi D S, Garg S K, and Bawa AS, 2002. Functional properties of seed meals and protein concentrates from tomato processing waste. Journal of Food Science 67:2997–3001.

Tang, S, Hettiarachchy, N, Horax, R, Eswaranandam, S, 2003. Physicochemical Properties and Functionality of Rice Bran Protein Hydrolyzate Prepared from Heat-stabilized Defatted Rice Bran with the Aid of Enzymes. Journal of Food Science 68:152-157.

Tomotake H, Shimaoka I, Kayashita J, Nakajoh M and Kato N, 2002. Physicochemical and functional properties of buckwheat protein product. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50: 2125-2129.

Wang M, Hettiarachchy N S, Qi, M, Burks W, and Siebenmogen T, 1999. Preparation and functional properties of rice bran protein concentrate. Journal of Agricultural and Food Chemistry 47:411–416.

Zayas, JF (1997). Functionality of Proteins in Food, London: Springer.

Archive of SID

www.SID.ir

Productions of rice bran protein concentrate and study some of its functional properties

N Ahmadifard[1*], A Abedian kenari[2] and A Motamedzadegan[3]

Received:January 01, 2012 Accepted: July 27, 2013
[1]Assistant Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Urmia, Urmia, Iran
[2]Associate professor, Department of Fisheries, Faculty of Marine Science, Tarbiat Modares University, Noor, Iran
[3]Assistant Professor, Department of Food Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
[*]Corresponding author: E mail: n.ahmadifard@urmia.ac.ir

Abstract
Large quantities of rice bran are generated as by-products during the milling of rice in Iran. Although the rice bran protein has high quality and usability in food industry but rice bran is used less now. For better use of rice bran protein, it is desirable to develop effective methods to separate or concentrate the protein component from this by product. In this investigation, with using of 1 N NaOH and in alkaline condition the rice bran protein concentrate was prepared by extraction of rice bran protein. Proximate composition, amino acid profile, and functional properties including water solubility, foam capacity and foam stability, emulsifying properties, water and oil absorption of rice bran protein concentrate were determined. The protein concentrate yield was 75%. The results of amino acid composition analysis showed that the lysine content, at 2.25%, and methionine content, at 2.17, of rice bran protein concentrate were lower than other amino acids. Water and oil absorption of rice bran protein concentrate were 2.01(g water/g protein) and 2.09 (g oil/g protein), respectively. Rice bran protein concentrate showed good emulsifying properties. Foam capacity was good in rice bran protein concentrate ($P<0.05$) but foam stability had decreased after 60 min until 60%. In conclusion, the amino acid composition and functional properties of rice bran protein concentrate was showed that this value-added product could be used as protein ingredient in livestock and aquaculture feed industry.

Keywords: Protein concentrate, Functional properties, Rice bran, Food industry

Archive of SID

www.SID.ir